Aus dem Pathologischen Institut der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr.med. H.-W. Altmann

NIERENSCHÄDEN NACH 6-HYDROXY-DOPAMIN

Eine licht- und elektronenmikroskopische Studie an der Rattenniere

INAUGURAL-DISSERTATION

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Manfred Walther

aus Regensburg

Würzburg, den 17. Oktober 1980

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543521_0006

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr.med. H.-W. Altmann

NIERENSCHÄDEN NACH 6-HYDROXY-DOPAMIN

Eine licht- und elektronenmikroskopische Studie an der Rattenniere

INAUGURAL-DISSERTATION

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Manfred Walther

aus Regensburg

Würzburg, den 17. Oktober 1980

Referent:	Professor Dr.med. W. Romen
Korreferent:	Professor Dr.med. H.-W. Altmann
Dekan:	Professor Dr.med. K.-H. Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 12. Dezember 1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

Seite

A. EINLEITUNG 1

B. MATERIAL UND METHODIK 3

C. ERGEBNISSE 5

1. Klinische Befunde 5

2. Morphologische Befunde 6

a) 1/2 - 1 Stunde nach 6-OH-DA - Gabe (200 mg/kg) 6

b) 2 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe (200 mg/kg) 8

c) 8 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe (200 mg/kg) 13

d) 24 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe (200 mg/kg) 21

e) 24 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe (100 mg/kg) 24

f) 48 - 72 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe (100 mg/kg) 26

3. Wirkungsverlust durch Autooxidation 28

D. DISKUSSION 29

Renale Ischämieschäden 31

Renale 6-OH-DA - Schäden 34

Wirkmechanismus des 6-OH-DA 35

In vitro - Zersetzung des 6-OH-DA 36

Energetische Insuffizienz durch 6-OH-DA 37

Hypertonieschäden 39

E. ZUSAMMENFASSUNG 42

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S I - VI

A. EINLEITUNG

Viele Informationen des Organismus werden durch chemische Wirkstoffe vermittelt. Hat man erst einmal einen solchen Transmitter isoliert und analysiert, wird man nach einem geeigneten Inhibitor suchen, der zu Aufschlüssen über die Wirkweise der zu inhibierenden Substanz verhilft und vielleicht auch als Therapeutikum eingesetzt werden kann. Ein solcher Inhibitor für das vegetative Nervensystem ist das 6-Hydroxydopamin (6-OH-DA), ein synthetisches Derivat des Dopamin. Seine Wirkungen auf das vegetative Nervensystem wurden zuerst von PORTER et al. (1963) beschrieben. Sie bestehen in einer schlagartigen Noradrenalinverarmung in peripheren sympathisch innervierten Organen. 6-OH-DA fand damit einen Platz in einer Reihe von Substanzen, deren noradrenalinfreisetzende Wirkung schon lange bekannt war, wie z.B. Amphetamin und Tyramin.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen von TRANZER und THOENEN (1967 und 1968) zeigten, daß die Noradrenalinfreisetzung auf einer vollständigen und selektiven Zerstörung des peripheren adrenergen Nervenendes beruht. Damit war mit 6-OH-DA ein probates Mittel für eine chemische Sympathektomie gefunden. Da die chemische Sympathektomie mit 6-OH-DA in ihrer Wirksamkeit der chirurgischen Denervation und der Immunosympathektomie ebenbürtig ist (THOENEN und TRANZER, 1968), erlangte die unkomplizierte Anwendung von 6-OH-DA große Bedeutung. Darüber hinaus soll die Degeneration des Nervenendes nach 6-OH-DA Applikation schneller eintreten als nach chirurgischer Denervation (van ORDEN et al., 1967).

Die Wirkung ist so verläßlich, daß 6-OH-DA heutzutage von Physiologen und Pharmakologen zu den verschiedensten Fragestellungen eingesetzt wird.

Noch größer wurde die Anwendungsmöglichkeit von 6-OH-DA, nachdem UNGERSTEDT (1968) gezeigt hatte, daß durch intracerebrale Injektionen selektiv zentrale adrenerge und dopaminerge Neuronen zur Degeneration gebracht werden können.

Daneben soll 6-OH-DA aber auch eine allgemein cytotoxische Substanz sein. Von unmittelbaren Wirkungen auf nicht neuronales Gewebe ist aber bislang wenig bekannt. So berichten TRANZER (1971) und TRANZER und RICHARDS (1971), daß keine langanhaltenden ultrastrukturellen oder funktionellen Schäden im erwachsenen Versuchstier nach 6-OH-DA-Gabe woanders als im peripheren Nerv gefunden werden konnten.

Bei einer routinemäßigen histologischen Untersuchung der Nieren von Ratten, die in der nephrologischen Abteilung der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg von Herrn Dr. Hennemann chemisch sympathektomiert waren (HENNEMANN, 1974), war uns eine exzessive Tubulusläsion aufgefallen, die uns Anlaß gab, diesem Phänomen nachzugehen. Wir haben deshalb an einer größeren Zahl von Ratten die Wirkung von 6-OH-DA licht- und elektronenmikroskopisch untersucht. Die Ergebnisse dieser Studie sollen im folgenden dargestellt werden.

B. MATERIAL UND METHODIK

Die Versuche wurden an 40 ca. 200 g schweren weiblichen weißen Ratten (Sprague Dawley) durchgeführt, die bis zu Versuchsbeginn mit dem Standardfutter der Fa. Eggersmann ernährt worden waren und Leitungswasser ad libidum erhalten hatten. 40 Tieren wurde in leichter Äthernarkose 6-OH-DA (die Substanz wurde uns dankenswerterweise von der Fa. Hoffmann - La Roche zur Verfügung gestellt) über die Schwanzvene mit Hilfe eines Polyäthylenkatheters langsam injiziert. Die Injektionsdauer betrug mindestens 30 sec. Die Tiere erhielten teils 100 mg, teils 200 mg 6-OH-DA pro kg Körpergewicht. Zum Schutz vor frühzeitiger Autooxidation wurde die pulverförmige Substanz vor der Injektion in 0,6 ml einer 0,02 N Essigsäure gelöst und unmittelbar injiziert. Das Lösungsgemisch hatte einen pH von 3,1.

Um die nachteilige Wirkung der Autooxidation zu überprüfen, haben wir bei 9 Tieren die zu injizierenden Dosen von 100 mg/kg KG erst 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 Minuten nach Herstellung des Lösungsgemisches injiziert und die dabei unmittelbar zu beobachtenden klinischen Symptome, wie die Auswirkung auf die Nierenmorphologie mit den Tieren verglichen, die die Substanz in gleicher Dosierung sofort nach ihrer Lösung erhalten hatten.

Aus dem Kollektiv, das 6-OH-DA in einer Dosis von 200 mg/kg KG unmittelbar nach seiner Lösung erhalten hatte, wählten wir jeweils mindestens 3 Tiere, denen 1/2 h, 1 h, 2 h, 8 h und 24 h nach der Injektion im Ätherrausch die Nieren entnommen wurden. Die Tiere, die 100 mg/kg KG erhalten hatten, wurden 24 h, 48 h und 72 h später binephrektomiert. Als Kontrollen verwendeten wir Ratten, die lediglich 0,6 ml einer 0,02 N Essigsäure erhalten hatten. Jedem Vergiftungszeitintervall wurde eine solche Kontrolle zugeordnet.

Die entnommenen Nieren wurden jetzt in Formalin fixiert und in Paraplast eingebettet. Die davon erstellten ca. 4 µm dicken Schnitte wurden mit Haematoxilin-Eosin, TriPAS und nach Ladewig gefärbt. Gleichzeitig wurden Anteile der Rinde der entnommenen Nieren in etwa 1 mm^3 große Würfel geschnitten und 2 Stunden lang mit einer 2 %igen gepufferten Osmiumtetroxidlösung fixiert. Von dem in Epon eingebetteten Material fertigten wir Semi- und Ultradünnschnitte an. Die einen wurden mit Silbermethenamin nach Movat gefärbt, die anderen mit Uranylacetat und Bleicitrat kontrastiert. Die Elektronenmikroskopische Untersuchung erfolgte mit dem Siemens Elmiskop I a.

C. ERGEBNISSE

1. Klinische Befunde

Schon während der Injektion des 6-OH-DA kommt es bei dem größten Teil der Versuchstiere zu ausgeprägten klinischen Erscheinungen. Als erstes ein deutliches Hervortreten der Augen. Die Pupillen werden auffallend groß. Dann sträuben sich die Haare des Rückenfells. Einige Tiere zeigen eine leichte Cyanose der Akren. Ein Viertel der Tiere bildet eine kurzzeitige Hyperventilation aus, die mit einer Tachycardie einhergeht. Spätestens nach 10 Minuten sind die genannten Symptome weitgehend verschwunden. Die meisten Tiere zeigen allerdings einen mehr oder weniger ausgeprägten Erschöpfungszustand, der 8 Stunden lang anhalten kann. Ein Teil der Tiere ist aber schon nach 2 Stunden wieder klinisch unauffällig.

24 Stunden, spätestens aber 48 Stunden nach der Giftgabe stellt sich dann eine erneute Verschlechterung des klinischen Bildes ein und die Tiere zeigen eine ausgeprägte Bewegungsarmut und wirken erschöpft. Weiterhin bemerkt man nun auch einen deutlichen Speichelfluß.

Bei allen Tieren ist eine mittelgradige Proteinurie und vereinzelt auch eine Haematurie festzustellen. Die meisten unserer Tiere waren spätestens 24 Stunden nach der 6-OH-DA-Applikation oligurisch.

Die wenigen Ratten, die keine der klinischen Symptome entwickelt hatten, sind auch bei der histologischen Untersuchung völlig unauffällig, so daß es naheliegt, daß das 6-OH-DA durch Autooxidation seine Wirkung verloren hat, wenn man einmal von der Möglichkeit absieht, daß die Injektion paravenös erfolgte.

2. Morphologische Befunde

a) 1/2 - 1 Stunde nach 6-OH-DA - Gabe (200 mg/kg)

Makroskopisch sind die meisten Nieren, die zu diesen Zeitpunkten entnommen wurden, unauffällig. Bei zwei Tieren, die eine halbe Stunde zuvor 6-OH-DA bekommen hatten, findet man eine fleckige Hyperämie der Oberfläche.

Bei der mikroskopischen Betrachtung fällt eine leichte, mitunter herdförmige Lumenvergrößerung des proximalen Tubulus auf. Einzelne Zellen des gewundenen und gestreckten Anteils sind geschwollen, das Cytoplasma ist schwächer angefärbt. Im elektronenmikroskopischen Bild erkennt man an diesen Zellen eine diffuse Einwässerung des Cytoplasmas (Abb. 1).

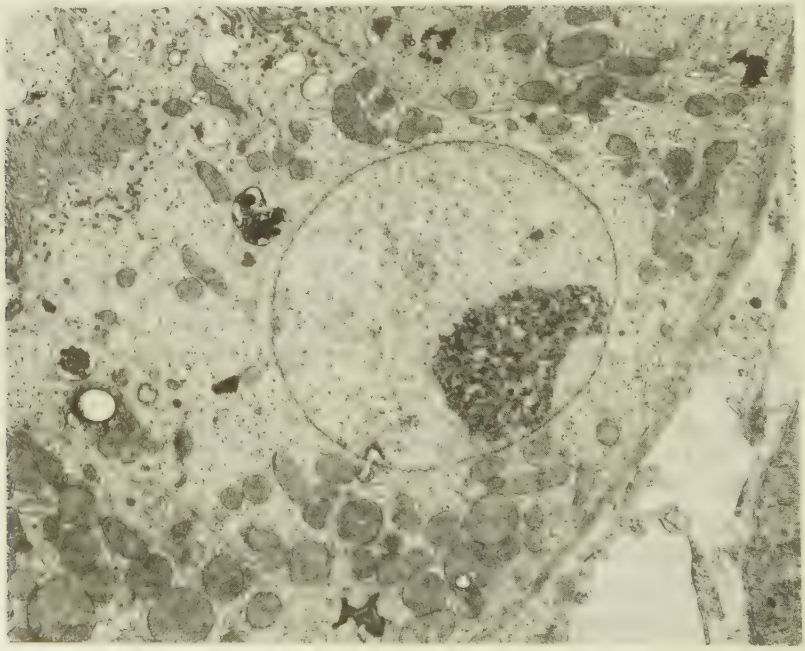

Abb. 1: Elektronenmikroskopische Aufnahme einer Zelle des proximalen Tubulus 1 Stunde nach 6-OH-DA - Gabe mit leichtem Zellhydrops. (5880 x)

Mitunter weisen diese Zellen auch Kuppenblasen auf, die häufig schon im Lichtmikroskop zu erkennen sind. Nur selten hebt sich zu diesen beiden Zeitpunkten der Bürstensaum als Ganzes von der Zelle ab (Abb. 2).

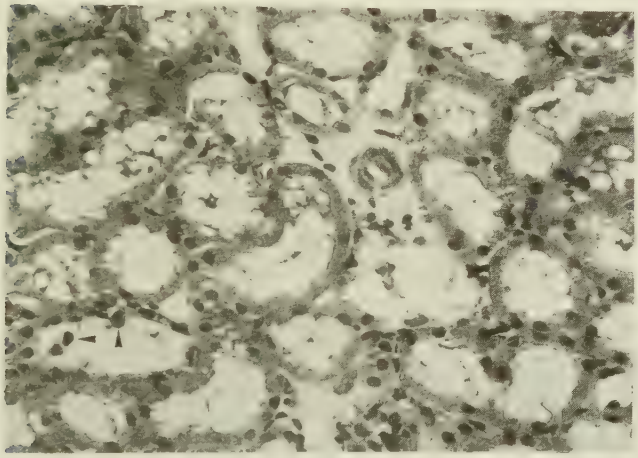

Abb. 2: Proximaler Tubulus 2 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe mit ausgeprägter Tubulusdilatation und zahllosen Kuppenblasen wie vereinzelten Einzelzellnekrosen (◄) (HE, 1 : 260)

Im distalen Tubulus kommen eine halbe bis eine Stunde nach 6-OH-DA - Gabe ganz vereinzelt Einzelzelluntergänge in Form von Koagulationsnekrosen vor. Vereinzelt sieht man im Lumen abgeschilferte nekrotische Epithelien, hyaline und bräunlich tingierte granulierte Zylinder, die mitunter auch Hämoglobin enthalten (vgl. auch Abb. 3).

Die Glomeruli sind bei allen Tieren zu beiden Zeitpunkten licht- und elektronenmikroskopisch weitgehend unauffällig, wenn man einmal von einer diffusen Hyperämie ihrer Kapillarschlingen absieht.

b) 2 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe (200 mg/kg)

Makroskopisch unterscheiden sich die Nieren dieser Tiere nicht von den Kontrollen.

Lichtmikroskopisch fällt auf, daß die auch jetzt noch herdförmigen Tubulusektasien gegenüber denjenigen in den ersten beiden Versuchszeitpunkten ausgeprägter geworden sind. In erster Linie ist der proximale Tubulus davon betroffen. Die Erweiterung der Harnkanälchen wird noch dadurch verstärkt, daß jetzt zahlreiche Epithelien abgeflacht sind und nicht mehr von einem Bürstensaum bedeckt zu sein scheinen (Abb. 3).

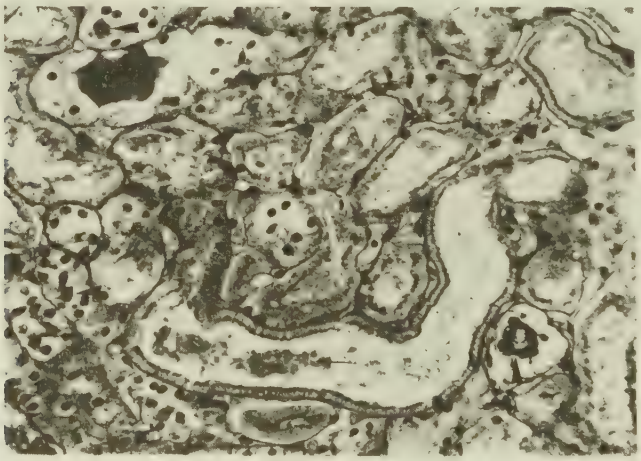

Abb. 3: Proximale Tubuli 2 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe. Die Tubuli sind stark dilatiert, das Epithel ist abgeflacht. Vereinzelt sieht man Koagulationsnekrosen (►). In den Lumina kommen Zelldetritus und Kuppenblasen (→) vor. Die distalen Tubuli fallen durch kondensiertes Eiweiß in der Lichtung und durch ihre hydropische Zellschwellung auf. (HE, 1 : 170)

Andere tragen nur noch Bürstensaumrudimente. Die abgelösten Bürstensaumanteile findet man häufig - zum Teil verklumpt - in der Tubuluslichtung wieder. Große Kuppenblasen treten an vielen Zellen des proximalen Tubulus auf. Ihre Zellkerne zeichnen sich durch eine deutliche Schwellung aus; ihr Chromatin ist stark aufgelockert.

Im Semidünnschnitt bemerkt man in einzelnen Nephronen eine nahezu diffuse Durchsetzung des Cytoplasmas des proximalen Tubulus mit kleinen Vakuolen (Abb. 4). Die Zellen sind dadurch so aufgetrieben, daß das Lumen weitgehend verschlossen sein kann. Von dieser feinvakuolären Alteration ist meist ein gesamter proximaler Tubulus betroffen, während die benachbarten Harnkanälchen diese Veränderung nicht aufweisen müssen, meist sogar dilatiert sind.

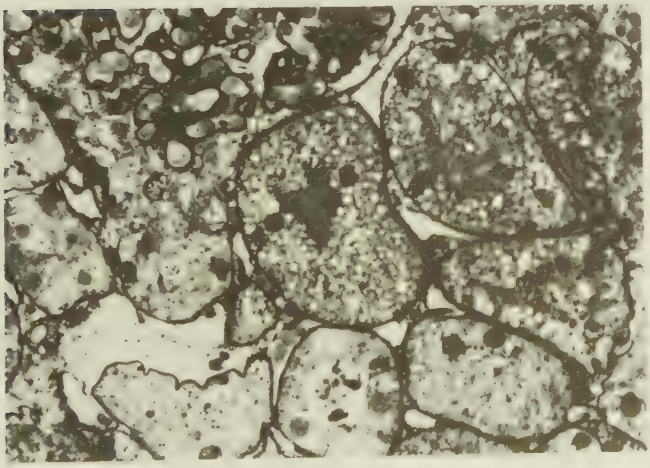

Abb. 4: Proximaler Tubulus 2 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe. Man erkennt eine feine Vakuolisierung der Zellen des proximalen Konvolutes, die bis in den Harnpol des Glomerulus (G) heranreichen. (Silbermethenamin-gefärbter Semidünnschnitt, 1 : 420)

Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen zeigen, daß für die vakuoläre Alteration unterschiedliche Prozesse verantwortlich zu machen sind: Zum einen entdeckt man apikal eine zunehmende Zahl an kleinen Resorptionsvakuolen, zum anderen fällt eine diffuse Ektasie des rauhen und glatten endoplasmatischen Retikulums auf, das zumeist fragmentiert erscheint (Abb. 5).

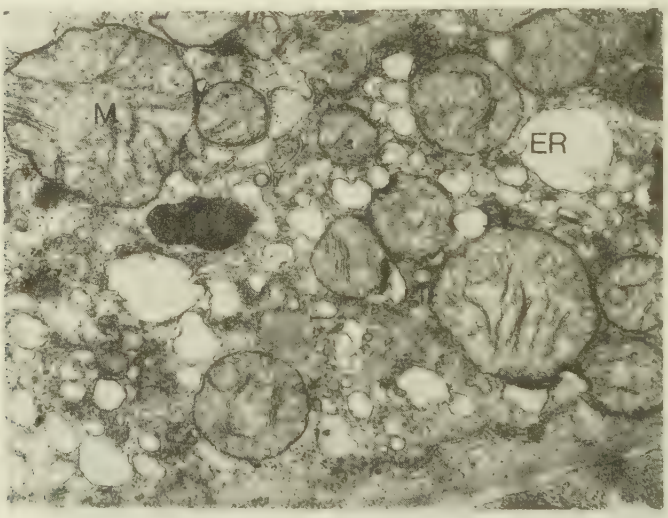

Abb. 5: Deutliche Matrixschwellung der Mitochondrien (M) und zystenartige Erweiterung des endoplasmatischen Retikulums (ER) im Bereich der pars recta des proximalen Tubulus 2 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe im elektronenmikroskopischen Bild (18 200 x)

Schließlich erkennt man auch eine ausgeprägte Vergrößerung aller Mitochondrien, die auf einer deutlichen Matrixschwellung beruht (Abb. 6).

Neben einer Schwellung findet man bei einigen Mitochondrien Auftreibungen der äußeren Hülle sowie gelegentlich auch Invaginationen (Abb. 7). Daneben bemerkt man elektronenmikroskopisch, daß einige Zellen des proximalen Tubulus ihren

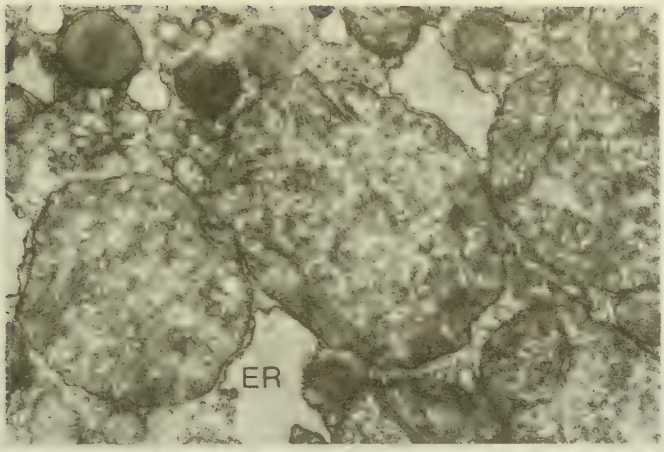

Abb. 6: Elektronenoptischer Ausschnitt einer proximalen Tubuluszelle 2 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe. Ausgeprägte Matrixschwellung. Im erweiterten endoplasmatischen Retikulum (ER) flockiges Material.

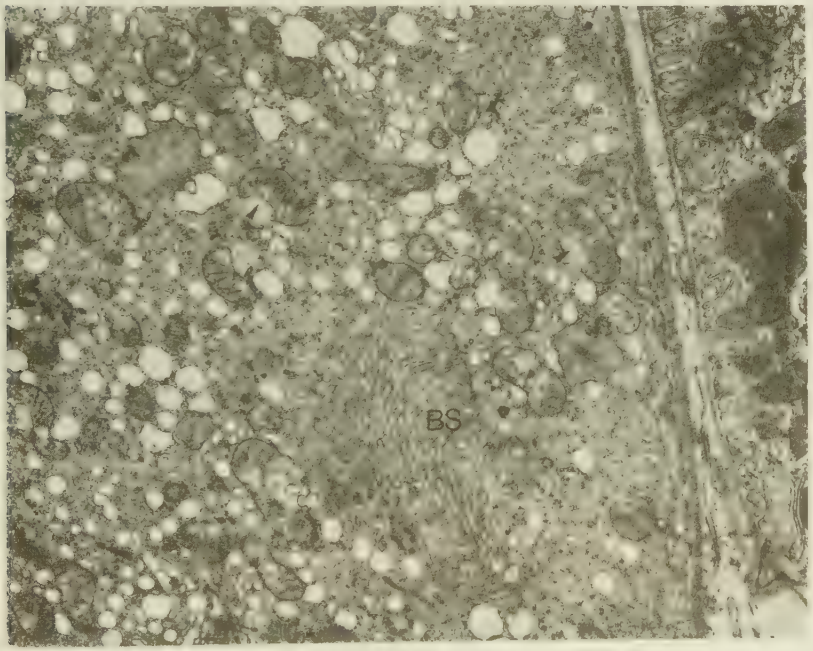

Abb. 7: Proximale Tubuluszelle 2 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe mit ausgeprägter Vesikulation des endoplasmatischen Retikulums. Die Mitochondrien zeigen stellenweise Einbuchtungen (◄) und eine leichte Matrixschwellung. BS = Bürstensaum. (9800 x)

Bürstensaum verloren haben. Sie lassen an ihrer Oberfläche nur noch einzelne Mikrovilli erkennen. An der Zellbasis ist das basale Labyrinth weitgehend verstrichen. Die Zahl der autophagen Vakuolen erscheint leicht vermehrt, auch kommen vermehrt basale Fetttropfen vor. Das Hyaloplasma ist bei den so veränderten Epithelien meist elektronentransparenter geworden (Abb. 8).

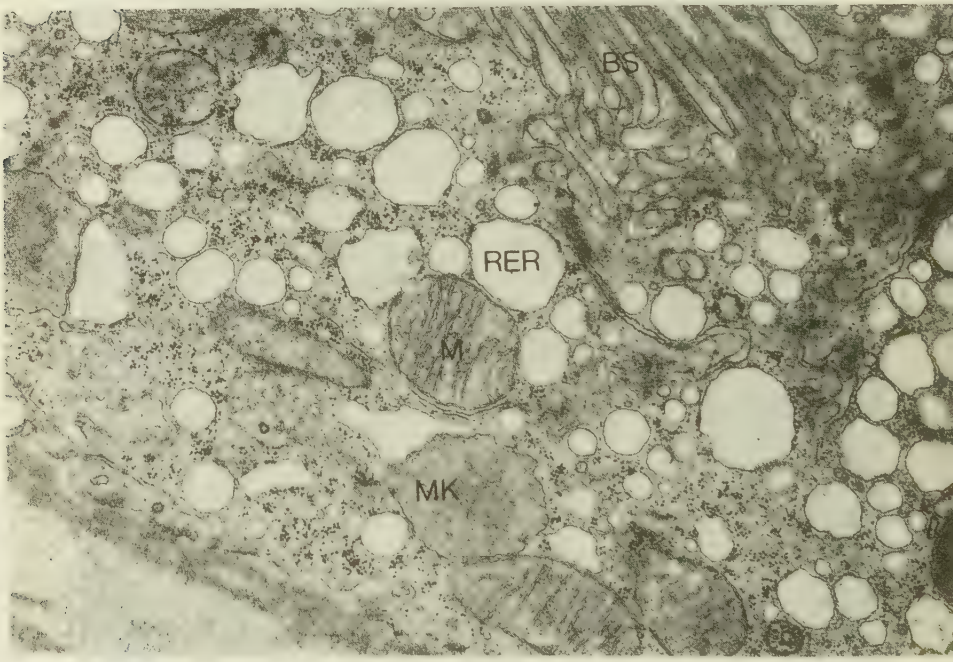

Abb. 8: Zelle aus der pars recta des proximalen Tubulus 2 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe.
Das rauhe endoplasmatische Retikulum ist vesikuliert (RER).
BS = Bürstensaum, M = Mitochondrium, MK = Mikrokörper
(21 000 x)

Nur vereinzelt trifft man zwischen solch veränderten Tubuli verdichtete Tubuluszellen wie in Abb. 3 an. Diese Zellen sind meist mit einem noch regelhaft strukturierten Bürstensaum bestückt.

c) 8 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe (200 mg/kg)

8 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe erscheinen beide Nieren leicht vergrößert und abgeblaßt. Licht- und elektronenmikroskopisch sind die gleichen Veränderungen wie zum Zeitpunkt nach 2 Stunden nach Giftgabe zu sehen. Sie sind jetzt allerdings viel ausgeprägter. Darüber hinaus kommen nun schon in größerer Zahl proximale Tubulusabschnitte - vor allem im S_3-Segment* - vor, die durch einen Kernverlust und ein teils feinwabiges, teils feingranuläres Zytoplasma ausgezeichnet sind. Das Elektronenmikroskop zeigt, daß es sich dabei um Cytolysen handelt, die vor allem durch eine extreme Mitochondrienvergrößerung charakterisiert sind (Abb. 9).

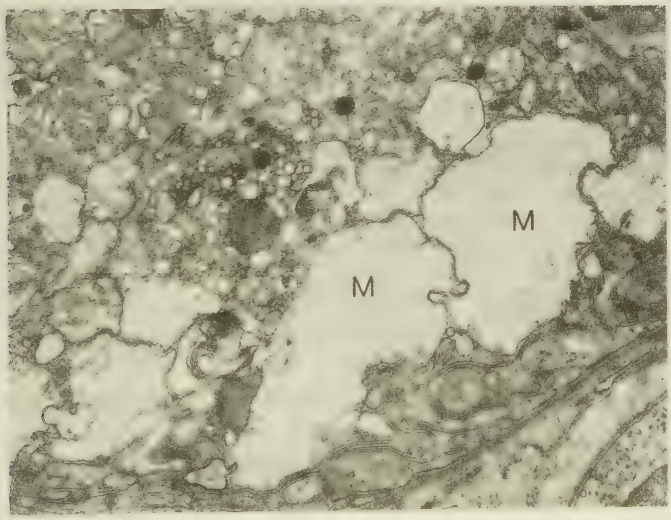

Abb. 9: Zelle des proximalen Tubulus 24 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe. Ausgeprägte Matrixschwellung der Mitochondrien (M) und Verlust der Christae mitochondriales. (9800 x)

*) Die Einteilung des proximalen Tubulus erfolgt nach MAUNSBACH (1966) in S_1 - S_2 und S_3-Segment.

Die Mitochondrien zeigen nicht nur eine Matrixschwellung, es kommen auch in der Matrix nicht membranumschlossene elektronentransparente Hohlräume vor (Abb. 10).

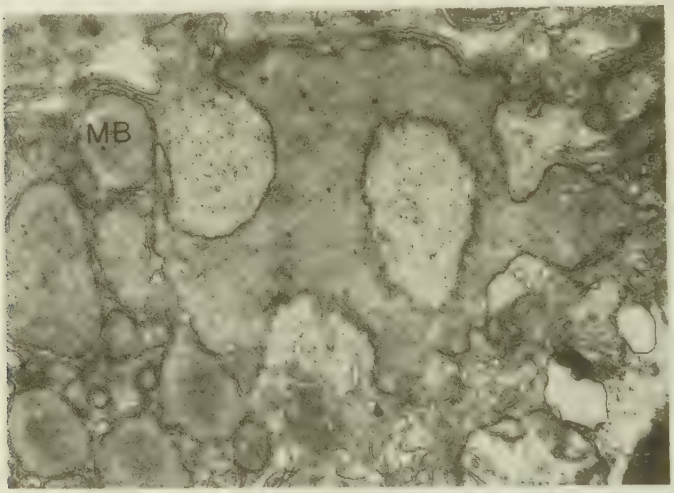

Abb. 10: Riesenmitochondrium mit mehreren Inklusionen und Reduktion der Christae mitochondriales 24 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe aus der pars recta des proximalen Tubulus. MB = Mikrokörper. (17 500 x)

Erstmals findet man 8 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe in den Mitochondrien auch elektronendichte, flockige Einschlüsse (Abb. 10).

Soweit das endoplasmatische Retikulum noch erkennbar, ist es dilatiert und vesikulär. Auch die perinukleären Zisternen der Kernhülle sind erweitert. Das Chromatin ist meist kaum noch anzufärben. Mitunter beobachtet man auch Karyorrhexisbilder. In diesen Tubuli sind nur noch wenige freie und membrangebundene Ribosomen und kein intakter Bürstensaum zu sehen (Abb. 11). Vereinzelt sieht man Bürstensaumrudimente, meist in Form von einzelnen fingerförmigen Zellausstülpungen. Ein basales Labyrinth findet sich nicht mehr.

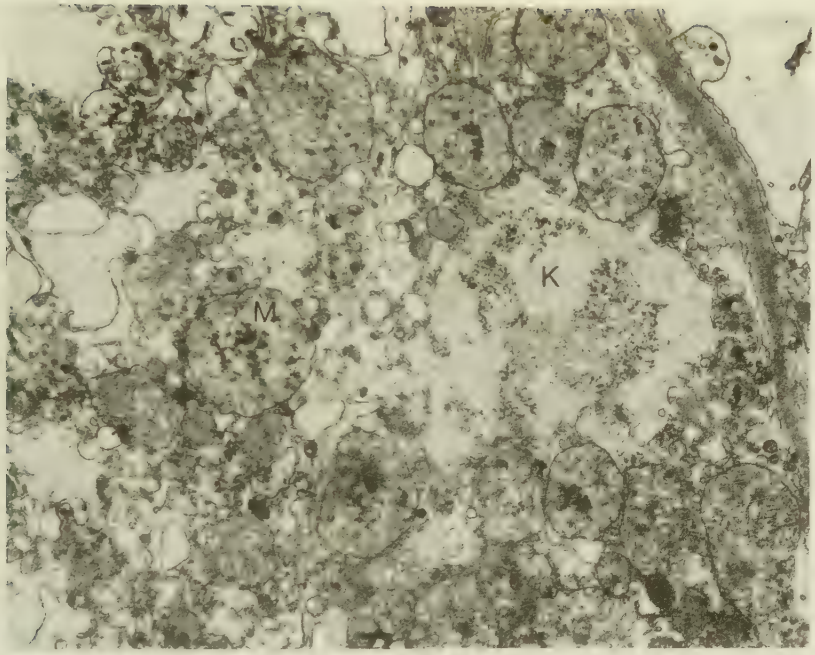

Abb. 11: Elektronenmikroskopische Aufnahme eines proximalen Tubulus 8 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe.
Man erkennt eine beginnende Nekrose. Der Kern (K) ist nur noch unvollständig von einer Hülle umgeben. Die Mitochondrien (M) sind stark geschwollen und zeigen schon zahlreiche grobgranuläre elektronendichte Inklusionen (11 300 x)

Neben solchen schwerst geschädigten Nephronabschnitten kommen aber auch noch 8 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe proximale Tubuli vor, die anscheinend nur leichte Veränderungen wie Zellschwellungen und Bürstensaumalterationen aufweisen (Abb. 12 und Abb. 13).

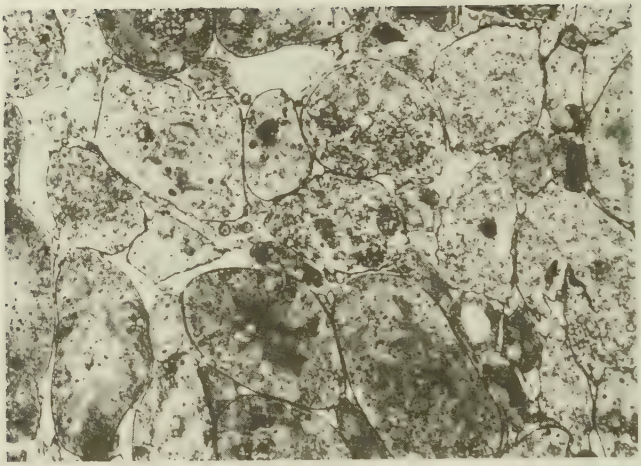

Abb. 12: Ausschnitt aus den marknahen Rindenabschnitten 8 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe. Die meisten Tubuluszellen sind nekrotisch. Nur noch stellenweise erkennt man Bürstensaumfragmente. Eine Tubuluslichtung ist nicht mehr nachzuweisen. Die tubuläre Basalmembran ist überall intakt. In der Mitte unten ein Hauptstückabschnitt, der nur leichte Veränderungen zeigt. (Silbermethenamin-gefärbter Semidünnschnitt, 1 : 260)

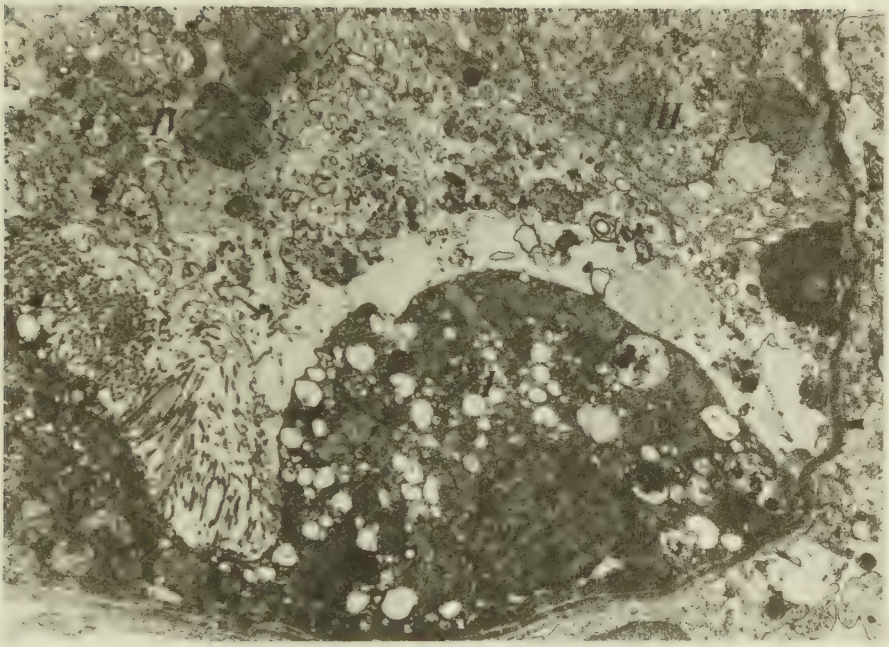

Abb. 13: Proximaler Tubulus 8 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe mit zwei Koagulationsnekrosen (I und II), zwei Cytolysen am oberen Bildrand (III und IV) und einer verdichteten, aber noch weitgehend intakten Tubuluszelle (V), die noch einen Bürstensaum trägt. Die Mitochondrien sind teils verdichtet, teils geschwollen und enthalten mitunter Kalkpräzipitate. An einer Stelle ist die tubuläre Basalmembran freigelegt (◄). (4850 x)

Einzelne der geschädigten Tubuli lassen eine kräftige fein- bis großtropfige Eiweißspeicherung erkennen. Feinflockiges Eiweiß findet man meist auch im Tubuluslumen und im Bowmanschen Kapselraum des zugehörigen Glomerulus (Abb. 14).

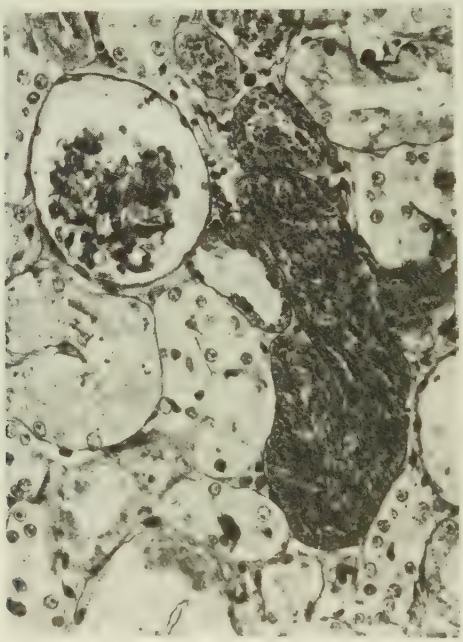

Abb. 14: Proximaler Tubulus 24 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe. Ausgedehnte Zellschädigung in Form von Zellschwellung und Nekrosen im Konvolut des proximalen Tubulus. In der Bildmitte ein proximaler Tubulus mit Zelldetritus im Lumen und kräftige, großtropfige Eiweißspeicherung. (TriPAS, 1 : 260)

Die distalen Tubuli dieser Nephrone und einige Sammelrohre sind mit homogenem Eiweißmaterial, gelegentlich auch von Hämoglobin-haltigen Zylindern angefüllt (Abb. 15 und Abb. 15a).

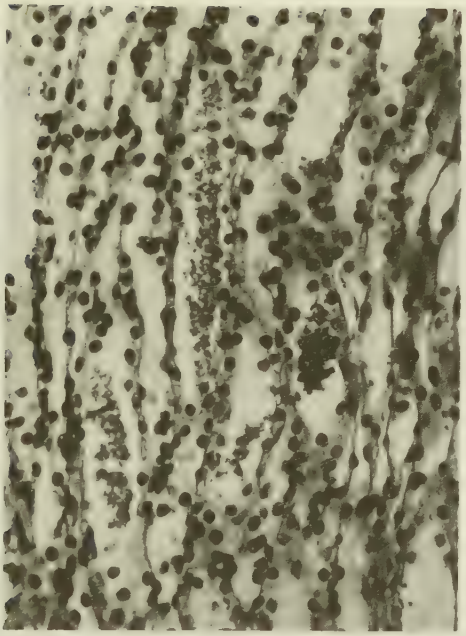

Abb. 15: Nierenpapille 8 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe. Ausschnitt aus dem papillennahen Nierenmark 8 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe. Die Henleschen Schleifen und die Sammelrohre sind intakt. In einigen Sammelrohren erkennt man Zelldetritus und granulierte Zylinder. (HE, 1 : 260)

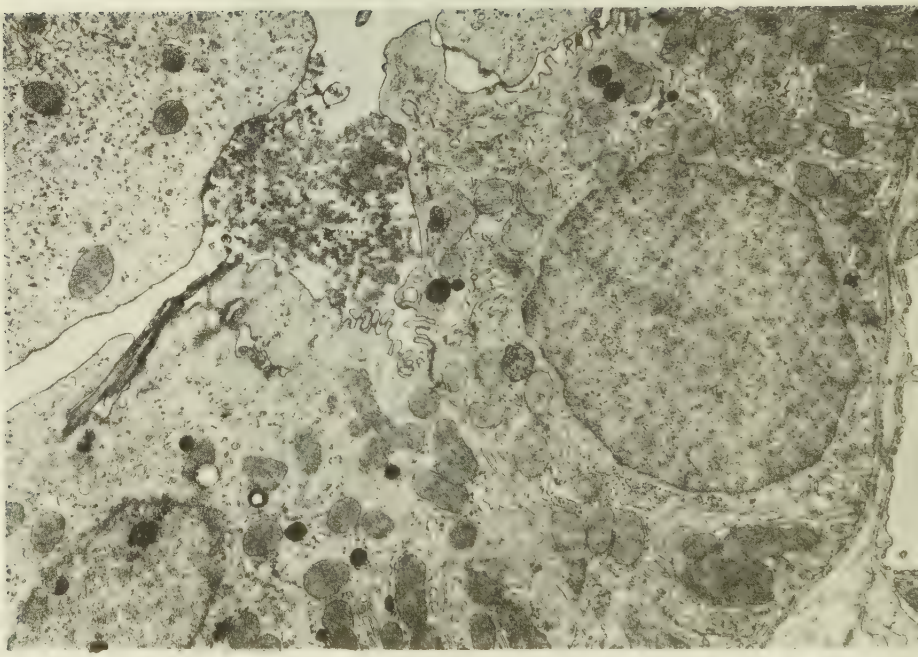

Abb. 15a: Elektronenmikroskopischer Ausschnitt eines Sammelrohres mit intaktem Zellbesatz und flockigem elektronendichtem Material im Lumen 24 Stunden nach 6-OH-DA-Gabe. (7700 x)

d) 24 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe (200 mg/kg)

Einen Tag nach der Giftgabe hat sich das Bild gegenüber den Befunden, die wir 8 Stunden nach Applikation des Giftes erhoben haben, kaum verändert. Die Cytolysen sind nun allerdings ausgedehnter geworden. Man findet jetzt sogar nackte Basalmembranabschnitte im S_2- und S_3-Segment, weniger im Anfangsteil des proximalen Tubulus, und in den tieferen Nephronabschnitten Zelltrümmer in großer Zahl. Bei fünf Tieren treten fokal segmental charakteristische Glomerulusveränderungen auf. Sie bestehen in einer herdförmigen Schlingenerweiterung, die bis hin zu einer aneurysmatischen Aussackung gehen kann (Abb. 16).

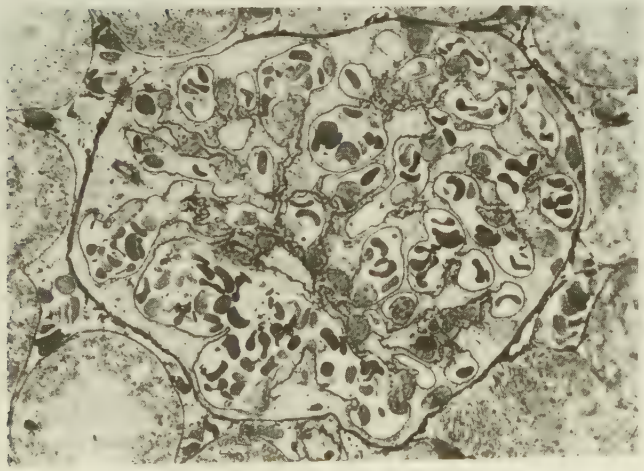

Abb. 16: Glomerulus 24 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe. Einige Kapillarschlingen sind stark dilatiert. (Silbermethenamin-gefärbter Semidünnschnitt, 1 : 480)

In diesen Schlingenabschnitten liegen stets zahlreiche Erythrozyten, nicht selten aber auch Fibrinpraezipitate. Mit dieser glomerulären Veränderung ist ein Übertritt von Erythrozyten und Eiweiß in das Ultrafiltrat verbunden (Abb. 17, 18, 19).

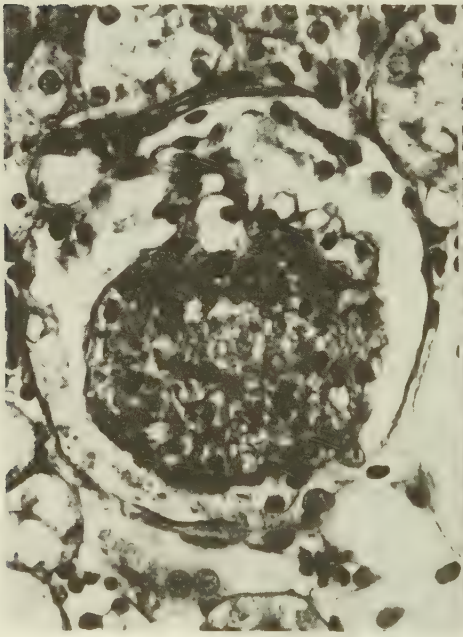

Abb. 17: Mit Fibrin und Erythrozyten austamponiertes Schlingenaneurysma eines Glomerulus 24 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe. (HE, 1 : 420)

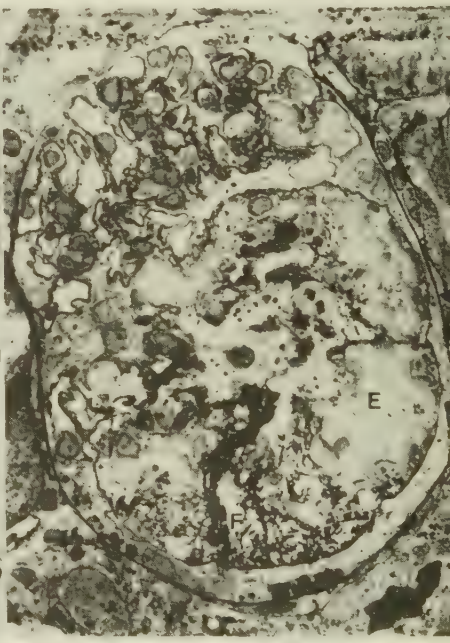

Abb. 18: Glomerulus 24 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe mit umschriebener Mesangiolyse und dadurch ausgeprägter Schlingenaneurysmabildung. In dem Aneurysma Erythrozytenaggregate (E) und Fibrin (F). Im oberen Bildabschnitt noch einige intakte Schlingen. (Silbermethenamin-gefärbter Semidünnschnitt, 1 : 420)

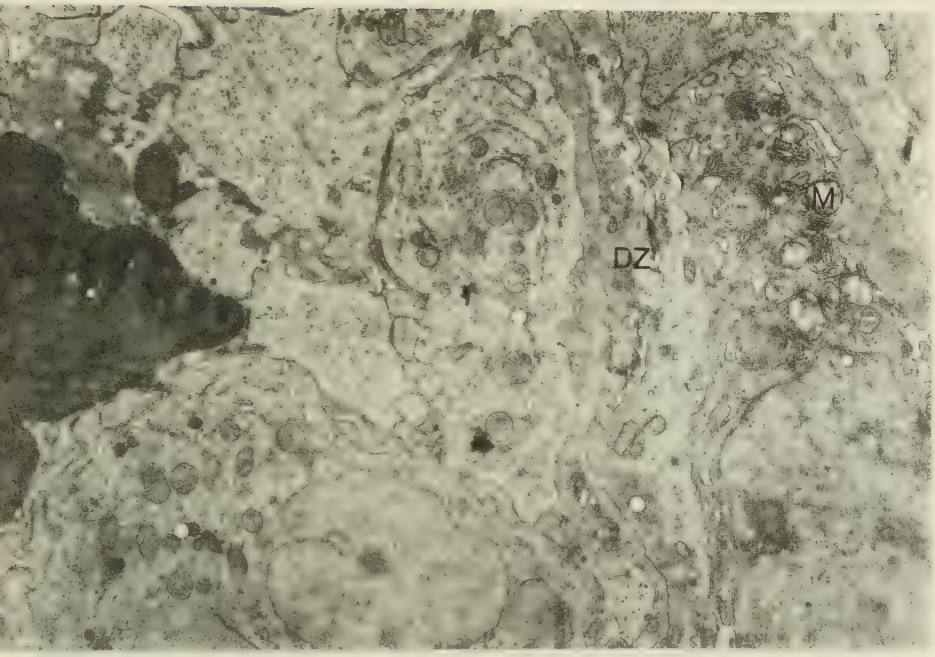

Abb. 19: Elektronenmikroskopischer Ausschnitt aus einem Glomerulus 24 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe. In der oberen Bildhälfte Anteile eines Schlingenaneurysmas mit Erythrozyten und Fibrin im Lumen und Endothelzellen, wie monozytoiden Zellen an der Basalmembran. Die Füßchenzellen (DZ) sind zu breiten Platten umgewandelt, Die Mitochondrien (M) der Deckzellen zeigen eine Matrixschwellung (7700 x)

e) 24 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe (100 mg/kg)

Die Tiere, die an Stelle von 200 mg/kg KG nur eine Dosis von 100 mg/kg KG von 6-OH-DA erhalten hatten, zeigen Tubulusveränderungen, die weitgehend denjenigen entsprechen, wie sie bei den 200 mg/kg dosierten Tieren schon 8 Stunden nach Versuchsbeginn beobachtet werden. Das Bild wird hier von der vakuolären Degeneration beherrscht (Abb. 20 und Abb. 21). Nekrosen sind noch kaum zu sehen. Die vakuolige Umwandlung der Tubulusepithelien hat 24 Stunden nach Gabe

Abb. 20: Elektronenmikroskopischer Ausschnitt eines proximalen Tubulus 24 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe (100 mg/kg). Die Zelle in der Mitte zeigt eine Erweiterung des endoplasmatischen Retikulums und der perinukleären Zysterne (►) sowie eine Matrixschwellung. Die Zelle am rechten unteren Bildrand ist verdichtet. (4600 x)

der 100 mg/kg KG - Dosis allerdings größere Anteile der Niere erfaßt, als man sie 8 Stunden nach Gabe von 200 mg/kg KG antrifft.

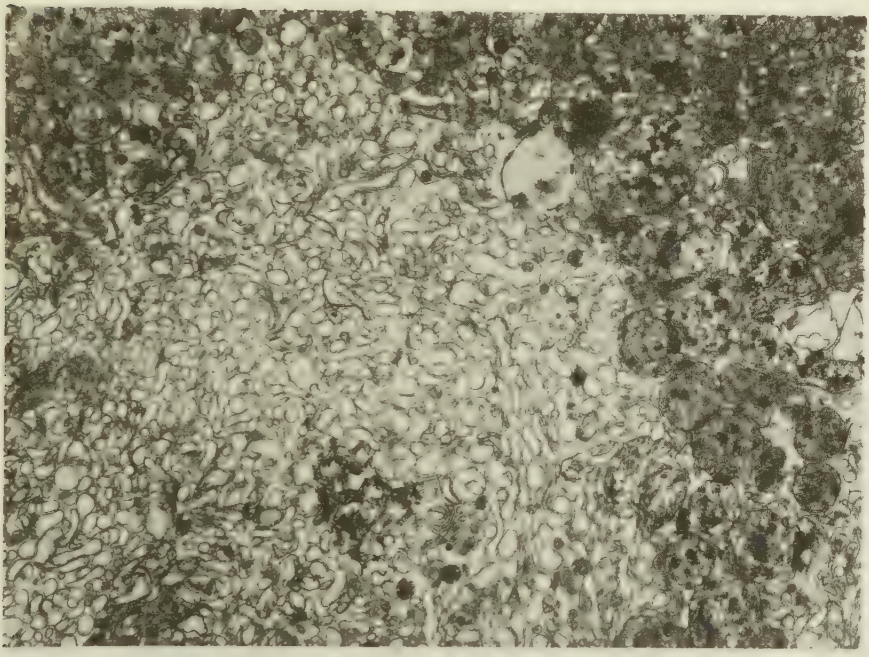

Abb. 21: Zelle aus dem proximalen Tubulus 24 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe (100 mg/kg). Der Bürstensaum ist bläschenförmig umgewandelt. In den geschwollenen Mitochondrien grobgranuläre Kalkpräzipitate. (9100 x)

f) 48 - 72 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe (100 mg/kg)

Die späten Versuchszeitpunkte haben wir nur nach Gabe der 100 mg/kg KG - Dosierung untersucht.

Die Nieren dieser Tiere sind 48 und 72 Stunden nach der Intoxikation geschwollen. Auf dem Schnitt ist eine mehr oder

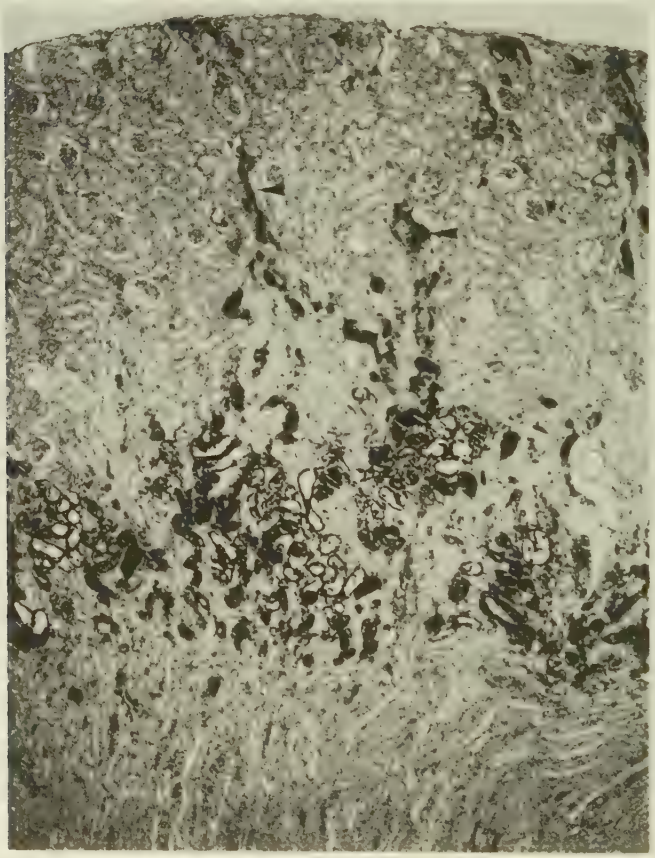

Abb. 22: Ausschnitt aus der Nierenrinde und dem Außenstreifen des Markes mit Kalkdarstellung 48 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe. Man beachte die ausgedehnte dystrophische Verkalkung vor allem im Außenstreifen des Markes, in dem sich die pars recta des proximalen Tubulus befindet. Stellenweise greift die Verkalkung auf die mittleren Rindenabschnitte (►) über. (Kossa, 1 : 120)

weniger ausgeprägte, weißliche Streifung an der Rinden-Markgrenze zu beobachten. Lichtmikroskopisch zeigen diese Nieren feingranuläre Cytolysen im proximalen Tubulus in einem Ausmaß, wie sie bei der Vergiftung mit 200 mg/kg KG schon nach 24 Stunden gefunden wurden. Darüber hinaus beobachtet man nach 48 Stunden granuläre Verkalkungen im Bereich der nekrotischen Tubuli, vor allem im Endteil des gewundenen Teils und der pars recta des proximalen Tubulus ($S_2 + S_3$), die für die oben beschriebene weißliche Zeichnung verantwortlich sind.

Mitunter sind ganze Tubulusabschnitte bandförmig verkalkt, wie das in Abb. 23 und Abb. 24 zu sehen ist. Dort, wo die Tu-

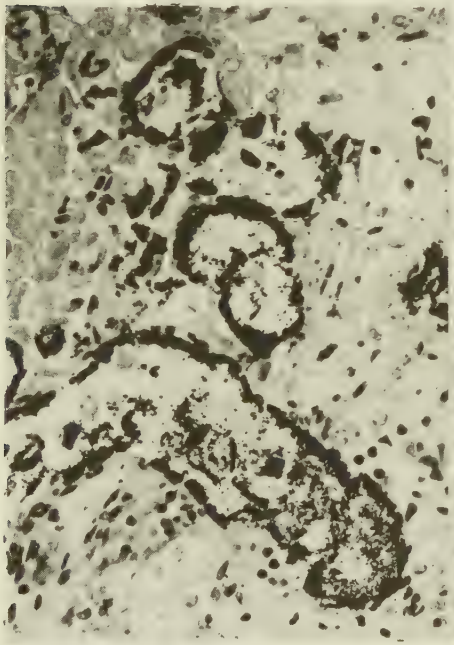

Abb. 23: Proximaler Tubulus 48 Stunden nach 6-OH-DA-Gabe. Ausgedehnte dystrophische Verkalkungen im proximalen Tubulus. (Kalknachweis nach Kossa, 1 : 260)

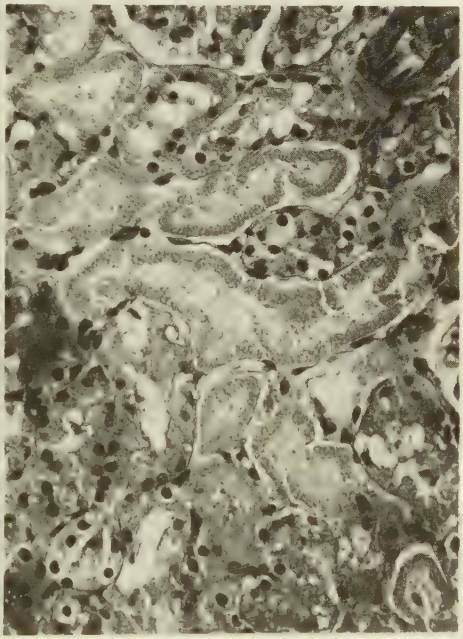

Abb. 24: Proximaler Tubulus 48 Stunden nach 6-OH-DA-Gabe mit ausgedehnten Koagulationsnekrosen. (HE, 1 : 260)

buli lichtmikroskopisch kalkfrei und nicht nekrotisch erscheinen, erkennt man elektronenmikroskopisch nicht selten auch schon Kalkpräzipitate, die initial in der mitochondrialen Matrix liegen.

Auch die Tiere dieses späten Versuchsabschnittes zeigen gelegentlich glomeruläre Schlingenhernien mit ihren Folgen, wie sie auf Seite 22 beschrieben wurden.

Trotz der zum Teil ausgedehnten Tubulusschäden ist zu keinem untersuchten Zeitpunkt eine Zunahme von Mitosen festzustellen.

An den Nierengefäßen und dem Niereninterstitium läßt sich auch kein nennenswerter pathologischer Befund erheben. Erwähnenswert ist lediglich, daß einzelne Tiere eine Markhyperämie aufweisen.

3. Wirkungsverlust durch Autooxidation

Wird 6-OH-DA in einer Dosis von 100 mg/kg KG 1 bis 5 Minuten nach der Lösung in 0,02 N Essigsäure injiziert, so bemerkt man in diesem Zeitintervall keinen Wirkungsverlust. Weder die im ersten Ergebnisteil aufgeführten klinischen Symptome, noch die licht- und elektronenmikroskopisch feststellbaren Läsionen sind in diesem Versuchskollektiv reduziert.

Wartet man mit der Injektion 6 bis 10 Minuten nach der Überführung des pulvrigen 6-OH-DA in eine Lösung, so sind die primär zu beobachtenden klinischen Erscheinungen nicht nennenswert abgeschwächt. Die typischen histologischen Läsionen treten allerdings kaum noch auf. Meist beobachtet man lediglich eine mäßige Tubulusektasie und vermehrt Kuppenblasen.

Wartet man länger als 10 Minuten mit der Injektion nach der Lösung des 6-OH-DA, dann treten weder klinische noch morphologische Veränderungen auf.

D. DISKUSSION

Die morphologischen Veränderungen an den sympathischen Nervenendigungen nach Gabe von 6-OH-DA sind hinreichend untersucht worden (TRANZER und THOENEN, 1967 und 1968; THOENEN und TRANZER, 1968, 1971; MALMFORS und SACHS, 1968; COBB und BENNET, 1971; SANER und THOENEN, 1971; TRANZER, 1971; SACHS und JONSSON, 1975). Der Wirkmechanismus der chemischen Denervierung, die diese Substanz auszeichnet, ist dadurch noch verständlicher geworden. Die Untersuchung der übrigen Organe wurde bislang weitgehend vernachlässigt, obwohl schon MALMFORS (1971 a) auf die Notwendigkeit solcher Studien hingewiesen hat, um ein vollständiges Bild von der Toxicität von 6-OH-DA zu erhalten.

In dem vorliegenden Ergebnisteil wird von gravierenden Alterationen in den Nieren von Ratten berichtet, die 30 Minuten - 48 Stunden zuvor 6-OH-DA in einer Konzentration von 100 oder 200 mg/kg KG erhalten hatten.

Dabei zeigte sich, daß schon nach 30 - 60 Minuten im gewundenen Teil des proximalen Tubulus licht- und elektronenmikroskopisch Veränderungen sichtbar werden, die bis zur Nekrose fortschreiten können. Charakteristisch sind Mitochondrienschwellungen, Kuppenblasen und cytoplasmatische Einwässerungen. Der Bürstensaum geht mehr oder weniger verloren.

Solche Cytolysen und ihre Vorstufen sind nach acht Stunden auch in der pars recta des proximalen Tubulus nachzuweisen. Im distalen Tubulus kommen nur einzelne Koagulationsnekrosen vor. Sie sind schon nach zwei Stunden sichtbar. Ihre Zahl nimmt kaum zu.

Die Nekrosen in den beiden Konvoluten werden wie die Kuppenblasen abgeschilfert und vom Urinstrom mitgenommen. Zum Teil bilden sie in den distalen Nephronabschnitten obturierende Zylinder. Die nicht so schwer geschädigten Zellen im proxima-

len Konvolut können sich wieder erholen. In der pars recta schreitet der Schaden weiter fort. Hier sind nach 24 Stunden Basalmembranabschnitte teilweise unbedeckt. Nach 48 Stunden und später findet man ausgedehnte dystrophische Verkalkungen. Regeneratorische Vorgänge sieht man übrigens nirgends.

Die Glomeruli sind - von einigen Ausnahmen abgesehen, die später diskutiert werden sollen - nicht geschädigt; das gilt auch für das Interstitium und die Gefäße. Selbst das vas afferens (Abb. 25), das ja, wie BARAJAS und WANG (1975) zeigen konnten, unter 6-OH-DA denerviert wird, ist morphologisch unauffällig.

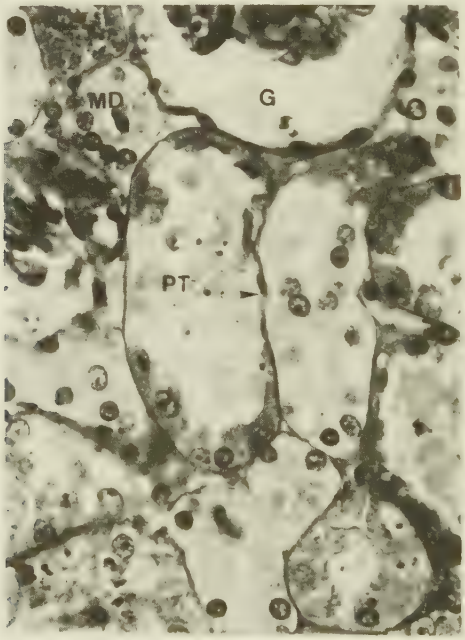

Abb. 25: Proximaler Tubulus 24 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe. Ausgedehnte Nekrosen im gesamten proximalen Tubulus (PT). Stellenweise liegt die tubuläre Zellmembran frei (►). Im Bowmanschen Kapselraum des Glomerulus (G) Zelldetritus. Die Macula Densa (MD) erscheint intakt. (HE, 1 : 420)

Renale Ischämieschäden

Bei dem kurz umrissenen Schädigungsmuster drängt sich der Vergleich mit der ischämischen Nierenschädigung auf. Ihre formale Pathogenese läßt sich am einfachsten an dem Modell der temporären Ischämie verständlich machen, die ausführlich von den Arbeitsgruppen um THOENES (1964), HEINE und STÖCKER (1969), REIMER und JENNINGS (1971), GLAUMANN und TRUMP (1975), DOBYAN et al. (1977 a) und (1977 b), VEKATACHALAM et al. (1978) u.a. dargestellt worden sind.

Auch hier sieht man zunächst Kuppenblasen, als deren Ursache - wie auch elektronenmikroskopische Untersuchungen von WARNING und THOENES (1971) gezeigt haben - cytoplasmagefüllte Ausstülpungen der Mikrovilli der apikalen Plasmamembran verantwortlich zu machen sind. Ebenso kommt es hier im proximalen Tubulus zu einer Zellschwellung mit Verlegung des Lumens unter Verlust des Bürstensaumes. Gleich wie nach 6-OH-DA stellen sich Einzelzellnekrosen im gewundenen Anteil ein. Mit zunehmender Ischämiedauer entwickeln sich zeitlich verschieden für den pars convoluta und pars recta des proximalen Tubulus ausgedehnte Cytolysen und Koagulationsnekrosen vor allem im S_3-Segment, die sich bei Fortdauer der Ischämie auch in den Cortex und in andere Nierenabschnitte fortsetzen (DOBYAN et al., 1977 a). Trotz dieser schweren Veränderungen findet man, wie an unserem Modell auch, noch fokal intakte Tubuli.

Subzellulär stehen in der Entwicklung der ischämischen Tubulusläsion die Mitochondrienveränderungen im Vordergrund (TRUMP et al., 1974). Nach anfänglicher Matrixkondensation und Christaschwellung überwiegt schon nach 30 Minuten das Bild der Matrixschwellung, verbunden mit einer Abrundung der Mitochondrienprofile. Das endoplasmatische Retikulum dilatiert zunehmend und wird zu großen Vesikeln transformiert. Unter Verlust des Bürstensaumes schreitet der ischämische Schaden fort. Nach 30 Minuten treten in der Mitochondrien-

matrix erstmals zarte flockige Schatten auf. Diese nehmen an Größe und Anzahl zu, bis das Mitochondrium eine maximale Matrixschwellung erreicht hat. Die flockigen Präzipitate werden zum Ausgangspunkt einer ausgeprägten Kalzifizierung.

24 Stunden nach einer durchgemachten Ischämieperiode von 120 Minuten bestehen die meisten Zellen des proximalen Tubulus nur noch aus einer Ansammlung von Vesikeln und Membrandetritus, die losgelöst von der Basalmembran im Tubuluslumen liegen (GLAUMANN und TRUMP, 1975).

Die beschriebenen Veränderungen laufen in den einzelnen Segmenten des proximalen Tubulus nicht synchron ab und haben auch nicht das gleiche Schicksal. So sind die ersten Veränderungen stets in der pars convoluta schon nach 15 Minuten zu beobachten und klingen, wenn der Blutstrom rechtzeitig wieder freigegeben wird, wieder ab (GLAUMANN et al., 1975; VEKATACHALAM et al., 1978). In der pars recta treten sie zwar auch schon sehr früh auf, die Schwere der Schädigung bleibt aber zunächst hinter der des proximalen Konvolutes zurück. Mit zunehmender Versuchsdauer ändert sich das Bild. Es kommt nun auch in der pars recta zu tiefgreifenden Veränderungen, die sogar den Zelltod herbeiführen können (GLAUMANN und TRUMP, 1975).

Das verzögerte Auftreten der schweren und dann meist zur Nekrose führenden Veränderungen in der pars recta dürfte darauf beruhen, daß diese Zellen bei einer Ischämie wegen ihrer besonderen Enzymausstattung zunächst auf die anärobe Glykolyse zurückgreifen können, die ihnen eine Zeitlang das Überleben ermöglicht (JACOBSEN und JORGENSEN, 1973).

Ein weiterer Unterschied besteht zwischen dem gewundenen und gestreckten Teil insofern, als in der pars convoluta selbst schwere Schäden nach langdauernden Ischämien (bis zu 120 Minuten) in der Regel reversibel sind (GLAUMANN et al., 1975). In der pars recta ist dagegen schon eine relativ milde Ischämie ausreichend, um hier - wenn auch verzögert - eine

irreversible Zellschädigung herbeizuführen (GLAUMANN und TRUMP, 1975). Offensichtlich besitzen die Zellen der pars recta nicht die Erholungsfähigkeit, die das proximale Konvolut auszeichnet. Das muß nicht unbedingt an den Zellen selbst liegen. Von Bedeutung ist dafür vermutlich die Lage der pars recta im äußeren Markstreifen. Nur hier bildet sich das "no reflow - Phänomen" (FLORES et al., 1972; SUMMERS und JAMISON, 1972; FRANKLIN et al., 1974) aus, das als Zusatzschädigung aufzufassen ist. Darunter versteht man die Tatsache, daß nach Lösen des arteriellen Verschlusses die Wiederherstellung des Blutflusses im Außenstreifen des Marks für ca. 24 Stunden aus noch nicht näher bekannten Gründen unvollständig bleibt. Die hier gelegenen peritubulären Kapillaren sind weiterhin durch eine Prästase strotzend mit Blut gefüllt und komprimieren die angrenzenden Tubuli (THIEL et al., 1979).

Während also die Rindenabschnitte wieder durchblutet werden, bleibt im Bereich der pars recta die Ischämie längere Zeit bestehen und besiegelt das Schicksal dieses vorgeschädigten Tubulusabschnittes. Selbstverständlich werden nach sehr schwerer und langdauernder Ischämie auch in anderen Nephronabschnitten prinzipiell gleichartige Veränderungen, wie man sie im pars recta schon nach kurzer Ischämiezeit findet, angetroffen. Sie bleiben aber stets in ihrem Ausmaß hinter den Läsionen des pars recta zurück.

Das differenzierte zeitliche Schädigungsmuster erklärt manche der widersprüchlichen Literaturbefunde. Es hängt also nicht nur von dem Ausmaß der Ischämie, sondern auch von dem nachfolgenden Restitutionsintervall ab, welch schwere Veränderungen und in welchem Segment sie erkennbar sind.

Renale 6-OH-DA-Schäden

Vergleicht man die morphologischen Ischämiefolgen mit unseren licht- und elektronenmikroskopischen Befunden am Nierentubulus nach 6-OH-DA-Gabe, dann stellt man eine weitgehende Übereinstimmung fest. Die Vermutung liegt somit nahe, daß die 6-OH-DA-Wirkung über eine Ischämie im Rahmen eines allgemeinen Schocks eingetreten ist.

Dagegen sprechen aber unsere klinischen Beobachtungen: Kurz nach der Injektion sind die Tiere kurzzeitig extrem hyperton. Damit gehen die übrigen Zeichen der Noradrenalinausschüttung, wie das Hervortreten der Augen, Tachycardie, das Sträuben des Felles und die starke Pupillenerweiterung einher. Nach 10 Minuten kehrt der systemische Blutdruck wieder zur Norm zurück (HENNEMANN, persönliche Mitteilung).

Die Tiere können allerdings noch einige Stunden einen stark erschöpften Eindruck hinterlassen. Wir können nicht ausschließen, daß bei einigen Tieren in dieser Phase der Blutdruck leicht erniedrigt sein kann.

Wenn überhaupt eine Hypotension vorliegt, ist sie nach dem klinischen Eindruck sicher nicht so ausgeprägt, daß sie die schweren Nierenschäden erklären würde.

Besonders muß darauf hingewiesen werden, daß wir die gleichen schweren Tubulusschäden auch bei den Tieren beobachtet haben, die klinisch 10 Minuten nach der Injektion wieder unauffällig waren.

Wir können also davon ausgehen, daß 6-OH-DA gleichartige Schäden wie die Ischämie setzt, diese aber nicht auf dem Wege einer Ischämie auftreten - höchstens durch eine 6-OH-DA-bedingte Hypotension verstärkt werden. Auch bei der Quecksilberintoxikation ist die zeitliche Folge der morphologischen Änderungen im proximalen Tubulus gleich wie bei der Ischämie (BARNES et al., 1980).

Es stellt sich jetzt die Frage, auf welche Weise dann 6-OH-DA die Tubulusveränderungen hervorruft, wenn die Ischämie zumindest als alleinige Ursache ausscheidet.

Wirkmechanismus des 6-OH-DA

Da biochemische Untersuchungen über den Wirkmechanismus auf Tubuluszellen noch nicht vorliegen, lassen sich nur die bis jetzt erhobenen recht umfangreichen Befunde am Nerven nach 6-OH-DA - Gabe zitieren. Von diesen Untersuchungen weiß man, daß 6-OH-DA durch die Noradrenalinpumpe in das Nerveninnere transportiert wird (JONSSON, 1971). Im Cytoplasma soll dann die Substanz in Vesikeln gespeichert werden (THOENEN und TRANZER, 1968; COBB und BENNETT, 1971). Bei niedriger Dosierung läßt sich schon eine Wirkung auf die nervale Funktion erzielen, ohne daß man licht- und elektronenmikroskopisch eindeutige Alterationen feststellen kann (THOENEN und TRANZER, 1968 und 1971). Nur bei höherer Dosierung stellt sich eine Degeneration der Nervenfaser ein, die mit frühzeitigen Mitochondrienveränderungen einhergeht (TRANZER, 1971; TRANZER und RICHARDS, 1971).

Wie diese Schädigung durch 6-OH-DA ausgelöst werden soll, weiß man noch nicht genau. Im Augenblick existieren 4 hypothetische Vorstellungen. Zwei basieren auf der Fähigkeit von 6-OH-DA zur spontanen, nicht-enzymatischen Oxidation.

I. Dabei nehmen HEIKKILA und COHEN (1971 und 1972) an, daß bei der Oxidation von 6-OH-DA H_2O_2 im Gewebe entsteht. Dieses bekanntlich cytotoxische Produkt wird als Ursache für den degenerativen Prozeß angesehen, indem es z.B. wichtige Sulfhydrylgruppen von Enzymen und Membranen oxidiert. Untermauert wird diese These durch die Beobachtung, daß Ascorbinsäure intrazellulär den 6-OH-DA - Effekt verstärkt, indem es die Bildung von H_2O_2 fördert. HEIKKILA und COHEN (1971 und

1972) fanden darüber hinaus, daß während der Autooxidation von 6-OH-DA auch noch die stark cytotoxischen Radikale $O_2^-\cdot$ und ·OH gebildet werden sollen.

II. Andere Autoren (THOENEN und TRANZER, 1968; THOENEN et al., 1970; SANER und THOENEN, 1971) sehen in der kovalenten Bindung der Oxidationsprodukte des 6-OH-DA - vornehmlich des Paraquinions - mit nukleophilen Gruppen von lebenswichtigen Makromolekülen den zentralen molekularen Mechanismus der schädigenden Wirkung. Das würde die Membranschädigung erklären, die von JONSSON (1971) und MALMFORS (1971 b) als primäre 6-OH-DA - Folge angenommen wird. In der Tat gibt es einige Hinweise, daß als eines der ersten Zeichen der Vergiftung die Funktion der Zellmembran beeinträchtigt ist (HAEUSLER, 1971; TRANZER, 1971). Der Nachweis, daß Oxidationsprodukte des 6-OH-DA kovalente Bindungen, z.B. mit Albumin eingehen können, erbrachten SANER und THOENEN (1971).

III. Der molekulare Wirkmechanismus des 6-OH-DA könnte aber auch darauf beruhen, daß es bei der Autooxidation zu einem rapiden O_2-Verbrauch kommt. Die Folge wäre eine lokale Hypoxie und damit eine Hypoxidose (HEIKKILA und COHEN, 1972).

IV. Den gleichen Effekt hätte die Entkopplung der oxidativen Phosphorylierung durch 6-OH-DA, wie sie vom 2 : 4 Dinitrophenol schon lange bekannt ist und von WAGNER und TRENDELENBURG (1971) nach in vitro - Behandlung von Leberzellhomogenaten mit 6-OH-DA beobachtet wurde.

In vitro - Zersetzung des 6-OH-DA

Die Oxidation des 6-OH-DA kann sich aber nicht nur intrazellulär einstellen, mit ihr ist auch stets in vitro zu rechnen. Um diese Tatsache wissend, setzen alle, die mit dieser Substanz arbeiten, der Injektionslösung ein Antioxidans, z.B.

Ascorbinsäure zu. Dennoch ist die Autooxidation dadurch nicht gänzlich zu verhindern. Ein wirksamerer Schutz als das Antioxidans ist daher die schnelle Injektion (JONSSON, 1971).

Für die kurze Haltbarkeit des gelösten 6-OH-DA spricht, daß es schon kurze Zeit (nach Minuten) zu einem Farbumschlag von rosa auf braun kommt (LONGO, 1973). Dieser Farbumschlag soll ein eindeutiges Zeichen des Oxidationsvorganges von 6-OH-DA sein (JONSSON, 1971; UNGERSTEDT, 1971). Das Ausmaß der Verfärbung gibt aber keine Auskunft, wieviel des gelösten 6-OH-DA oxidiert ist (JONSSON, 1971). Das zeigt die Tatsache, daß auch bräunlich verfärbte Lösungen noch zu einer Nervendegeneration führten (UNGERSTEDT, 1971). Nach photometrischen Untersuchungen ist die Stabilität von gelöstem 6-OH-DA von dem pH-Wert der Lösung abhängig (SANER und THOENEN, 1971). So war die wäßrige Lösung von 6-OH-DA bei pH 3,0 über zwei Stunden relativ stabil, wohingegen es bei einem pH von 7,4 sofort zu einer oxidativen Zersetzung kam (SANER und THOENEN, 1971). Wie es sich mit dem Wirkverlust verhält, haben wir zu testen versucht. Unsere Befunde zeigen, daß spätestens bei einem Intervall von 8 Minuten zwischen Lösung der Substanz und Injektion keine renalen Veränderungen mehr auftreten.

Energetische Insuffizienz durch 6-OH-DA

Auf welchen molekularen Wegen auch immer die Schädigung durch 6-OH-DA ausgelöst wird, am Ende steht jedenfalls stets eine energetische Insuffizienz, wie sie morphologisch durch die mitochrondrialen Veränderungen zu belegen ist. Inwieweit eine zusätzliche primäre Membranläsion, wie sie auf Seite 36 diskutiert wurde, bei den renalen Veränderungen nach 6-OH-DA - Gabe im Spiel ist, läßt sich zunächst nicht beantworten. Unsere gegenüber der Ischämie etwas abweichenden Befunde können in diesem Zusatzphänomen ihre Erklärung finden.

Daß das Nervengewebe ein besonderes Zielorgan des 6-OH-DA ist, erklärt sich aus dem angeblich fast selektiven Aufnahmemechanismus, über den diese Zellen offensichtlich verfügen (THOENEN und TRANZER, 1968; MALMFORS, 1971 c; THOENEN und TRANZER, 1971).

Eine Reihe von Untersuchern konnte an den nicht neuronalen Strukturen nach 6-OH-DA - Gabe weder morphologische noch funktionelle Veränderungen entdecken (TRANZER, 1971; TRANZER und RICHARDS, 1971). Dagegen existieren nur einzelne, zudem noch recht allgemein gehaltene Aussagen, daß auch andere Zellen auf 6-OH-DA reagieren (MALMFORS, 1971 c; UNSICKER et al., 1976).

So berichtet MALMFORS (1971 a) von einer Pigmentation der Nierenoberfläche, lichtmikroskopisch sichtbaren Proteintubuli und von einer deutlichen Met-Hämoglobinbildung nach hohen Dosen von 6-OH-DA. Ferner weist er darauf hin, daß auch HeLa - Zellkulturen von dieser Substanz geschädigt werden sollen. UNSICKER et al. (1976) untersuchten die Wirkung von 6-OH-DA auf Zellkulturen der Nebennierenrinde von Ratten und beschreiben lytische Veränderungen dieser Zellen. Eine erste Reaktion der Zelle auf 6-OH-DA ist ein Stillstand der Membranundulation und der Zellorganellen. 6 Stunden nach Einwirkung von 6-OH-DA (die Lösung enthielt eine Konzentration von 40 mg/l) waren die meisten Zellen abgestorben. Chromaffine Markzellen waren nicht geschädigt.

Unsere Befunde fügen einen eindeutigen Beleg der extraneuralen Schädigungsmöglichkeit hinzu.

Unter der Annahme, daß 6-OH-DA in größeren Mengen auch in die Tubuluszellen der Niere aufgenommen wird, ist auch in diesen Zellen mit einer energetischen Insuffizienz zu rechnen.
Dazu paßt, daß gerade die Zellen geschädigt werden, die einen hohen Energiebedarf haben - nämlich der proximale Tubulus. Zum anderen erklärt sich die Tatsache, daß die 6-OH-DA - Alterationen den Ischämieschäden so gleichen.

Wie das 6-OH-DA in die Tubuluszellen gelangt, läßt sich derzeit nicht beantworten. Ein selektiver Aufnahmemechanismus, wie er bei den noradrenergen und dopaminergen Nervenendigungen existiert, ist bei den Tubuluszellen unbekannt.

Man weiß aber, daß Monoamine im proximalen Tubulus rückresorbiert werden können. Von Dopamin ist darüber hinaus bekannt, daß es im proximalen Tubulus sogar sezerniert wird (RENNICK, 1968).

Man kann sich also recht gut vorstellen, daß bei einer systematischen Gabe von 6-OH-DA im proximalen Tubulus intrazellulär eine solche Konzentration erreicht wird, die für eine Induktion der beschriebenen Schäden ausreicht.

Damit wäre das 6-OH-DA, was den Einfluß auf die Niere anbelangt, z.B. den Entkopplern der oxidativen Phosphorylierung an die Seite zu stellen, die, begrenzt auf das proximale Konvolut, vergleichbare Tubulusläsionen hervorrufen können (GILMAN, 1964; KEMMER et al., 1967; GOODMANN und GILMAN, 1970; ARNOLD et al., 1976).

Die vorhandenen Diskrepanzen zwischen den Befunden nach Entkopplung der oxidativen Phosphorylierung und 6-OH-DA-Applikation könnten verschiedene Ursachen haben. Zum einen ist nicht auszuschließen, daß intrazelluläre Konzentrationsunterschiede vorliegen, zum anderen könnte die auf Seite diskutierte, noch hypothetische Membranschädigung für die Ausweitung der Schädigung vom gewundenen zum gestreckten Hauptstück verantwortlich sein.

Hypertonieschäden

Von den bis jetzt diskutierten Befunden sind diejenigen abzutrennen, die sich nur bei einzelnen Tieren feststellen ließen. So trat bei einigen Tieren, die eine hohe Dosis (200 mg/kg KG) an 6-OH-DA erhalten hatten, eine Hämaturie auf. Bei den lichtmikroskopischen Untersuchungen sah man in

den Glomeruli Schlingenaneurysmata und Fibrinpräzipitate in den Kapillaren (Abb. 16, 17, 18) sowie intakte vasa afferentia. Trotz der Literaturhinweise, daß Dopamin über die sympathischen Nervenendigungen Veränderungen am vas afferens macht (BARAJAS und WANG, 1975), zeigen unsere Nieren an dieser Struktur durchweg keinen nennenswerten ultrastrukturellen Schaden (Abb. 26). In den zugehörigen Tubuli waren stets Erythrozyten und große Mengen Eiweiß zu sehen. Im distalen Tubulus und in einzelnen Sammelrohren hatten sich hyaline Zylinder gebildet.

Abb. 26: 24 Stunden nach 6-OH-DA - Gabe. Vas afferens mit offener Lichtung und regelhafter Wand. (5300 x)

Wir möchten diese fakultative schwere Nierenschädigung auf die kurzzeitige initiale hypertensive Blutdruckkrise zurückführen. Diese Veränderungen ähneln nämlich weitgehend denjenigen, die wir bei Mensch und Tier mit maligner Hypertonie sehen.

Daß sie sich nicht regelmäßig einstellen, dürfte daran liegen, daß die Blutdruckkrisen nicht immer gleich schwer sind. Auch wird die individuelle Reaktionsweise der Tiere eine gewisse Rolle spielen.

Die vorliegende Arbeit bringt morphologische Belege für die allgemeinen cytotoxischen Eigenschaften des 6-OH-DA und versucht diese auf molekularer Ebene zu erklären. In der Tat sind die Nierenveränderungen erst bei recht hohen Dosen von 6-OH-DA zu beobachten. Doch auch bei niedriger Dosierung, wie sie allgemein für die chemische Denervierung angewandt werden sollte, treten noch Tubulusläsionen auf.

E. ZUSAMMENFASSUNG

Trotz der verbreiteten Anwendung von 6-Hydroxy-Dopamin (6-OH-DA) als Mittel zur selektiven Sympathektomie ist bislang seine Wirkung auf nicht neuronales Gewebe wenig untersucht worden, obwohl es Hinweise dafür gibt, daß diese hochreaktive Substanz auch andere Gewebe zu schädigen vermag. Deshalb wurde in der vorliegenden Arbeit die Wirkung von 6-OH-DA auf die Rattenniere untersucht. Dazu wurde vierzig weiblichen Ratten 6-OH-DA in einer Dosierung von 100 bzw. 200 mg/kg KG intravenös injiziert. Nach verschiedenen Zeitintervallen, längstens jedoch nach 72 Stunden, wurden die Versuchstiere binephrektomiert und die Nieren licht- und elektronenmikroskopisch untersucht.

Unmittelbar nach der Injektion kommt es zu einer kurzzeitigen generellen peripheren sympathischen Reaktion, verbunden mit einem deutlichen Blutdruckanstieg und einer Tachycardie. Ein anschließender Erschöpfungszustand, der nach zwei Stunden wieder abklingt, tritt nach 24 bis 48 Stunden erneut auf.

Histologisch sind die proximalen Tubuli stark geschädigt. Es beginnt mit einer zytoplasmatischen Einwässerung im proximalen Konvolut. Mit zunehmender Versuchsdauer kommt es dann zu ausgeprägten fokalen Cytolysen im Endteil des proximalen Konvolutes und in der pars recta. Diese nekrotischen Veränderungen sind Ausgangspunkt von dystrophischen Verkalkungen. Im distalen Konvolut geht die Schädigung über Einzelzellnekrosen und hydropische Zellveränderungen nicht hinaus. Abgeschilferte Epithelien und Eiweiß bilden granuläre Zylinder in den Sammelrohren und distalen Tubuli. Bei einigen Versuchstieren stellen sich zusätzlich - offensichtlich hypertensive - glomeruläre Veränderungen ein, wie Schlingenkollaps und Fibrinausfällung in Schlingenaneurysmata. Ultra-

strukturell sind Mitochondrienschwellung und eine diffuse cytoplasmatische Einwässerung charakteristische Frühveränderungen. Ein primärer Mitochondrienschaden ist verständlich, da man weiß, daß 6-OH-DA ein potentieller Entkoppler der oxidativen Phosphorylierung ist. Von diesen Substanzen ist eine selektive Schädigung des proximalen Konvolutes bis hin zur Cytolyse bekannt. 6-OH-DA besitzt darüber hinaus eine membranschädigende Wirkkomponente, die evtl. dafür verantwortlich gemacht werden kann, daß sich der Tubulusschaden auch noch im Bereich des pars recta ausdehnt.

Herrn Professor Dr.med. W. Romen gilt mein Dank für die Überlassung des Themas und seine steten und unermüdlichen Bemühungen um den Fortgang der Arbeit.

Herrn Professor Dr.med. H.-W. Altmann danke ich für die Übernahme des Korreferates.

Weiterhin gilt mein Dank Frau Brigitte Wolbert für ihre Mithilfe bei der Durchführung der Versuche.

Frau Hagen danke ich für die photographischen Arbeiten.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

ARNOLD, L., COLLINS, C., STARMER, G.A.:
Studies on the modification of renal lesions due to aspirin and oxyphenbutazone in the rat and the effects on the kidney of 2 : 4 dinitrophenol.
Pathol. 8, 179-184 (1976)

BARAJAS, L., WANG, P.:
Demonstration of acetylcholinesterase in the adrenergic nerves of the renal geomerular arterioles.
J. Ultrastruct. Res. 53, 244-253 (1975)

BARNES, J.L., McDOWELL, E.M., McNEIL, J.S., FLAMENBAUM, W., TRUMP, B.F.:
Studies on the pathophysiology of acute renal failure. IV. Protective effect of dithiothreitol following administration of mercuric chloride in the rat.
Virchows Arch. B Cell Path. 32, 233-260 (1980)

COBB, J.L.S., BENNETT, T.:
An electron microscopic examination of the short term effects of 6-hydroxydopamine on the peripheral adrenergic nervous system.
In: 6-hydroxydopamine and catecholamine neurons, 33-45, Amsterdam - London: North-Holland Publishing Co. (1971)

DOBYAN, D.C., NAGLE, R.B., BULGER, R.E.:
Hypovolemic models of acute tubular necrosis.
Virchows Arch. B Cell Path. 25, 271-280 (1977a)

DOBYAN, D.C., NAGLE, R.B., BULGER, R.E.:
Acute tubular necrosis in the rat kidney following sustained hypotension.
Physiologic and morphologic observations.
Lab. Invest. 37, 411-422 (1977b)

FLORES, J., DI BONA, D.R., BECK, C.H., LEAF, A.:
The role of cell swelling in ischemic renal damage and the protective effect of hypertonic solute.
J. clin. Invest. 51, 118-126 (1972)

FRANKLIN, A.W., GANOTE, C.E., JENNINGS, R.B.:
Blood reflow after renal ischemia. Effects of hypertonic mannitol on reflow and tubular necrosis after transient ischemia in the rat.
Arch. Path. 98, 106-111 (1974)

GILMAN, A.:
Analgesic nephrotoxicity. A pharmalogical analysis.
Amer. J. med. 36, 67-173 (1964)

GLAUMANN, B., TRUMP, B.F.:
Studies on the pathogenesis of ischemic cell injury. III. Morphological changes of the proximal pars recta tubules (P_3) of the rat kidney made ischemic in vivo.
Virchows Arch. B Cell Path. 19, 303-323 (1975)

GLAUMANN, B., GLAUMANN, H., BEREZESKY, I.K., TRUMP, B.F.:
Studies on the pathogenesis of ischemic cell injury. II. Morphological changes of the pars convoluta (P_1 and P_2) of the proximal tubule of the rat kidney made ischemic in vivo.
Virchows Arch. B Cell Path. 19, 281-302 (1975)

GOODMAN, L.S., GILMAN, A.:
The pharmacological basis of therapeutics.
4th ed. pp. 322, 336, 338 (1970)

HAEUSLER, G.:
Short and long term effects of 6-hydroxydopamine on peripheral organs.
In: 6-hydroxydopamine and catecholamine neurons, 193-204, Amsterdam - London: North-Holland Publishing Co. (1971)

HEIKKILA, R., COHEN, G.:
Inhibition of biogenic amine uptake by hydrogen peroxide: A mechanism for toxic effects of 6-hydroxydopamine.
Science, N.Y. 172, 1257-1258 (1971)

HEIKKILA, R., COHEN, G.:
Further studies on the generation of hydrogen peroxide by 6-hydroxydopamin.
Molec. Pharmac. 8, 241-248 (1972)

HEINE, W.D., STÖCKER, E.:
Zur Proliferationskinetik der Niere nach temporärer, unilateraler Ischämie.
In: Proceedings of the 4th national meeting held at Brno 17th to 19th June 1968, Vol. 3, 46-60
Czechoslovak society fo histochemistry and cytochemistry, Prague 1969

HENNEMANN, H.:
Die urämische Sympathicopathie.
Habil. Arbeit, Universität Würzburg (1974)

JACOBSEN, N.O., JORGENSEN, F.:
Further enzyme histochemical observations on the segmentation of the proximal tubules in the kidney of male rat.
Histochemie 34, 11-32 (1973)

JONSSON, G.:
Effects of 6-hydroxydopamine on the uptake, storage and subcellular distribution of noradrenaline.
In: 6-hydroxydopamine and catecholamine neurons, 87-99, Amsterdam - London: North-Holland Publishing Co. (1971)

KEMMER, Chr., KUNZE, K.D., HERRMANN, W.R.:
Das elektronenmikroskopische Bild der Rattenniere nach oraler Applikation von 2,4-Dinitrophenol (DNP).
Frankf. Z. Path. 77, 83-97 (1967)

LONGO, V.G.:
Central effects of 6-hydroxydopamine.
Behavioral Biology 9, 397-420 (1973), Abstract No 312

MALMFORS, T.:
Diskussionsbeitrag S. 353
In: 6-hydroxydopamine and catecholamine neurons, Amsterdam - London: North-Holland Publishing Co. (1971a)

MALMFORS, T.:
The influence of drugs on the effect of 6-hydroxy-dopamin.
In: 6-hydroxydopamine and catecholamine neurons, 239-242, Amsterdam - London: North-Holland Publishing Co. (1971b)

MALMFORS, T.:
The effects of 6-OH-DA on the adrenergic nerves as revealed by fluorescence histochemical method.
In: 6-hydroxydopamine and catecholamine neurons, 47-58, Amsterdam - London: North-Holland Publishing Co. (1971c)

MALMFORS, T., SACHS, Ch.:
Degeneration of adrenergic nerves produced by 6-hydroxy-dopamine.
Europ. J. Pharmacol. 3, 89-92 (1968)

MAUNSBACH, A.B.:
Observations on the segmentation of the proximal tubule in the rat kidney. Comparison of results from phase contrast, fluorescence and electron microscopy.
J. Ultrastruct. Res. 16, 239-258 (1966)

ORDEN, L.S. van, BENSCH, K.G., LANGER, S.Z., TRENDELENBURG, U.:
Histochemical and fine structural aspects on the onset of denervation supersensitivity in the nictitating membrane of the spinal cat.
J. Pharmacol. Exp. Therap. 157, 274-283 (1967)

PORTER, C.C., TOTARO, J.A., STONE, C.A.:
Effect of 6-hydroxydopamine and some other compounds on the concentration of norephedrin in the hearts of mice.
J. Pharmacol. Exp. Therap. 140, 308-316 (1963)

REIMER, K.A., JENNINGS, R.B.:
Alterations in renal cortex following ischemic injury. I. PAH uptake by slices of cortex after ischemia or autolysis.
Lab. Invest. 25, 176-184 (1971)

RENNICK, B.R.:
Dopamine: Renal tubular transport in the dog and plasma binding studies.
Am. J. Physiol. 215, 532-534 (1968)

SACHS, Ch., JONSSON, G.:
Commentary of action of 6-hydroxydopamin.
Biochem. Pharm. 24, 1-8 (1975)

SANER, A., THOENEN, H.:
Contributions to the molecular mechanism of action of 6-OH-DA.
In: 6-hydroxydopamine and catecholamine neurons, 265-275, Amsterdam - London: North-Holland Publishing Co. (1971)

SUMMERS, W.K., JAMISON, R.L.:
The no reflow phenomenon in renal ischemia.
Lab. Invest. 26, 635-643 (1971)

THIEL, G., de ROUGEMONT, D., TORHORST, H., PETERS-HAEFELI, L., BRUNNER, F.P.:
Zum Mechanismus der Entstehung und Protektion des akuten ischaemischen Nierenversagens.
XIII Symposion der Gesellschaft für Nephrologie, Berlin 1979

THOENEN, H.:
Biochemical alterations induced by 6-hydroxydopamine in peripheral adrenergic neurons.
In: 6-hydroxydopamine and catecholamine neurons, 75-85, Amsterdam - London: North-Holland Publishing Co. (1971)

THOENEN, H., TRANZER, J.P.:
Chemical sympathectomy by selective destruction of adrenergic nerve endings with 6-hydroxydopamine. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. 261, 271-288 (1968)

THOENEN, H., TRANZER, J.P.:
The pharmacology of 6-hydroxydopamin.
In: 6-hydroxydopamine and catecholamine neurons, 169-180, Amsterdam - London: North-Holland Publishing Co. (1971)

THOENEN, H., TRANZER, J.P., HÄUSLER, G.:
Chemical sympathectomy with 6-hydroxydopamine.
In: New aspects of storage and release mechanisms of catecholamines. (Eds. M.I. Schümann and G. Kroneberg) Berlin - Heidelberg - New York: Springer 1970, p. 130

THOENES, W.:
Mikromorphologie des Nephrons nach temporärer Ischämie. Zwanglose Abhandlung aus dem Gebiet der normalen und pathologischen Anatomie, Heft 15.
Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1964

TRANZER, J.P.:
Discussion of the mechanism of action of 6-OH-DA at a fine structural level.
In: 6-hydroxydopamine and catecholamine neurons, 257-264, Amsterdam - London: North-Holland Publishing Co. (1971)

TRANZER, J.P., RICHARDS, I.G.:
Fine structural aspects on the effect of 6-hydroxy-dopamine in the peripheral adrenergic neurons.
In: 6-hydroxydopamine and catecholamine neurons, 15-31, Amsterdam - London: North-Holland Publishing Co. (1971)

TRANZER, J.P., THOENEN, H.:
Ultramorphologische Veränderungen der sympathischen Nervenendigungen der Katze nach Vorbehandlung mit 6-hydroxydopamin.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. 257, 343-344 (1967)

TRANZER, J.P., THOENEN, H.:
An electron microscopic study of selective, acute degeneration of sympathetic nerve terminals after administration of 6-hydroxydopamin.
Experientia 24, 155-156 (1968)

TRUMP, B.F., LAIHO, K.A., MERGNER, W.J., ARSTILA, A.U.:
Studies on the subcellular pathophysiology of acute lethal cell injury.
Beitr. Path. 152, 243-271 (1974)

UNGERSTEDT, U.:
6-hydroxydopamine induced degeneration of central monoamine neurons.
Europ. J. Pharmac. 5, 107-110 (1968)

UNGERSTEDT, U.:
Histochemical studies on the effect of intracerebral and intraventricular injection of 6-hydroxydopamine on monoamine neurons in the rat brain.
In: 6-hydroxydopamine and catecholamine neurons, 101-127, Amsterdam - London: North-Holland Publishing Co. (1971)

UNSICKER, K., CHAMLEY, J.H., McLEAN, J.:
Extraneuronal effects of 6-hydroxydopamine. Tissue culture studies on adrenocortical cells of rats.
Cell Tiss. Res. 174, 83-97 (1976)

VENKATACHALAM, M.A., BERNARD, D.B., DONOHOE, J.F., LEVINSKY, N.G.:
Ischemic damage and repair in the proximale tubule. Differences among the S_1, S_2 and S_3 segments.
Kidney Internat. 14, 31-49 (1978)

WAGNER, K., TRENDELENBURG, U.:
Effect of 6-hydroxydopamine on oxidative phosphorylation and on monoamine oxidase activity.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. 269, 112-116 (1971)

WARNING, A., THOENES, W.:
Zelluläre Blasenbildung als Ischaemiefolge. Untersuchungen am proximalen Nierentubulus.
Verh. d. dtsch. Ges. Path. 55, 640-644 (1971)

L e b e n s l a u f

Am 11. Oktober 1948 wurde ich als zweites Kind des Apothekers Waldemar Walther und seiner Ehefrau Gertrud, geb. Herzog, in Regensburg geboren.

Im Herbst 1955 wurde ich in Regensburg in die Volksschule eingeschult, verbrachte das 4. Volksschuljahr in Wunsiedel und schloß die Volksschule mit der 5. Klasse in Würzburg ab.

1960 trat ich in das Röntgen-Gymnasium Würzburg ein. Dort beendete ich im Juni 1969 meine Gymnasialzeit mit dem neusprachlichen Abitur.

Im Juli 1969 trat ich als Sanitätsoffiziersanwärter in die Bundeswehr ein. Nachdem ich eine einjährige Offiziersausbildung durchlaufen hatte, konnte ich mich mit dem Sommersemester 1970 an der Universität Würzburg im Fach Humanmedizin immatrikulieren.

Am 22. Oktober 1973 legte ich die ärztliche Vorprüfung ab und beendete mein Medizinstudium am 16. Dezember 1976 mit dem Staatsexamen.

Die anschließende Medizinalassistentenzeit leistete ich vom April 1977 bis Mai 1978 im Kreiskrankenhaus Uffenheim ab, in den Fächern Innere Medizin, Chirurgie und Gynäkologie.

Die Approbation als Arzt erhielt ich am 15. April 1978.

Meine aktive Restdienstzeit bei der Bundeswehr begann ich im August 1978 als Truppenarzt in Cochem a.d. Mosel. Seit September 1979 bin ich Angehöriger der Sanitätsschule der Luftwaffe in Giebelstadt, wo ich ebenfalls als Truppenarzt und als Staffel-Chef der Sanitätsstaffel tätig bin.

Manfred Walther

Druck: Böhler-Verlag 87 Würzburg, Seilerstr. 10-10a